

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar belakang

Penuaan merupakan proses alamiah kompleks yang terjadi pada semua manusia yang menyebabkan perubahan secara morfologis maupun fisiologis (Tan et al 2019). Proporsi individu berusia 65 tahun ke atas telah meningkat hampir dua kali lipat dalam beberapa dekade terakhir dan diproyeksikan akan terus meningkat. Berdasarkan data Badan Pusat Statistik jumlah penduduk lanjut usia di Indonesia diperkirakan meningkat sekitar 10 persen pada tahun 2020 dan sekitar 20 persen pada tahun 2024. Diperkirakan pada tahun 2050, populasi lanjut usia akan mencapai 74 juta jiwa atau sekitar 25 persen dari total populasi (BPS, 2021).

Penuaan melibatkan perubahan multifaktorial pada berbagai lapisan organ tubuh, mulai dari tulang hingga epidermis. Penurunan produksi kolagen dan elastin menyebabkan perubahan pada matriks ekstraseluler kulit menjadi tampak keriput dan rapuh. Selain itu berbagai klinis penuaan yang tampak meliputi kelainan kulit kasar, kulit kering, telangiektasis, dan kelainan pigmentasi kulit. Proses penuaan ini dipengaruhi oleh faktor intrinsik dan faktor ekstrinsik yang saling berkaitan. Faktor intrinsik yang mempengaruhi penuaan yaitu genetik, hormonal, peningkatan *reactive oxygen species* (ROS), perubahan struktur anatomi serta fungsi metabolisme tubuh dan perubahan komposisi mikrobiota kulit. Faktor ekstrinsik yang mempengaruhi penuaan diantaranya paparan sinar ultraviolet, gaya hidup, diet, polusi udara dan stress (Kerns et al., 2019). Paparan sinar ultraviolet merupakan faktor yang memiliki pengaruh paling besar dalam penuaan ekstrinsik. Sinar ultraviolet berkontribusi terhadap peningkatan *reactive oxygen species* (ROS) dan penurunan fungsi mitokondria sehingga terjadi kerusakan DNA. Membran basal pada *dermal-epidermal junction* juga mengalami kerusakan pada area kulit yang terpapar matahari. Sinar ultraviolet merangsang produksi enzim yang merusak matriks ekstraseluler (MMP) dan meningkatkan aktivator plasminogen, sehingga mempercepat penuaan kulit (Kerns et al., 2019).

Studi terkini menunjukkan bahwa keberagaman mikrobiota kulit merupakan salah satu faktor akselerasi penuaan. Mikrobiota berinteraksi secara kompleks dengan sel-sel kulit dan berperan penting dalam mempertahankan fungsi *barrier* kulit dengan keseimbangan mikrobiota komensal dan patogen, mempertahankan pH kulit dan menjaga kelembapan kulit (Woo dan kim, 2024). Komposisi mikrobiota berubah seiring bertambahnya usia, jumlah *Lactobacillus* menurun pada orang lanjut usia.

membandingkan mikrobiota kulit didapatkan bahwa komposisi *im* pada wanita berusia 20 tahun lebih tinggi dibandingkan pada un (Jo et al., 2022).

Perubahan morfologis kulit ini yang tentunya berdampak pada aspek psikososial, ekonomi, dan Kesehatan. Hal ini meningkatkan tren yang semakin meningkat dalam mencari perawatan kulit anti penuaan. Salah satu strategi yang dapat mencegah maupun mengatasi klinis penuaan adalah



penggunaan probiotik. Probiotik didefinisikan sebagai mikroorganisme hidup yang ketika diberikan dalam jumlah yang cukup dapat memberikan manfaat Kesehatan. Mikroorganisme ini harus stabil secara biologis dan genetik, spesies yang paling umum digunakan yaitu *Lactobacillus* dan *Bifidobacterium* (Woo dan Kim, 2024).

Lactobacillus plantarum merupakan bakteri penghasil asam laktat yang merupakan salah satu probiotik paling umum digunakan dan secara luas sudah dipelajari kegunaannya pada manusia. *Lactobacillus plantarum* secara oral dapat memberikan manfaat sebagai anti aging dengan memperbaiki tingkat kelembapan kulit, mengurangi garis halus, meningkatkan elastisitas, dan mencerahkan kulit (Piyavatin et al, 2020)., sedangkan studi *in vitro* menilai efektifitas *Lactobacillus plantarum* topikal sebagai agen pencerah menunjukkan adanya efek penghambatan tirosinase pada sel melanoma mencit yang diberikan intervensi (Kim et al., 2015).

Efikasi *Lactobacillus plantarum* secara topikal pada manusia masih terbatas, studi sebelumnya menggunakan *Lactobacillus plantarum* topikal dalam vehikulum oil menunjukkan perbaikan tanda klinis penuaan, namun hal ini masih menjadi ketidakjelasan apakah efek yang didapat merupakan efek dari *Lactobacillus plantarum* atau karena komponen oil dan krim yang bersifat melembabkan (Falholt et al., 2023). Serum merupakan vehikulum digunakan dalam bidang dermatologi yang mengandung berbagai komponen aktif dan memberikan efek terapi lebih baik dibandingkan bentuk vehikulum lainnya. Saat ini belum ada serum di Indonesia yang mengandung mikrobiom *Lactobacillus plantarum* sebagai bahan aktifnya.

Oleh karena data mengenai efektifitas serum mikrobiom sebagai agen anti penuaan masih terbatas, sehingga berdasarkan permasalahan dan peluang pengembangan terapi anti penuaan diatas, maka penulis ingin meneliti mengenai efektifitas *Lactobacillus plantarum* sebagai agen anti penuaan dalam bentuk topikal menggunakan vehikulum lain yaitu serum yang memiliki daya serap lebih tinggi dan dapat mengandung bahan aktif yang lebih tinggi dibandingkan dengan vehikulum yang digunakan pada penelitian lain. Efektifitas mikrobiom topikal yang mengandung *Lactobacillus plantarum* sebagai agen anti penuaan pada penelitian ini dinilai melalui pH kulit, indeks melanin, dan klinis hiperpigmentasi.

1.2 Teori

1.2.1 Penuaan Kulit

Penuaan merupakan proses biologis yang tidak dapat dihindari dan terjadi dinamis yang ditandai dengan meningkatnya degenerasi berbagai sistem tubuh dan penurunan kapasitas cadangan fisiologis. Kulit yang menua tampak lebih gelap, lebih



memiliki pigmentasi yang tidak merata, sedangkan kulit yang sik kering dan pucat dengan lipatan halus dan peningkatan .ilit lansia terjadi penipisan epidermis, penurunan suplai darah, e kulit, melambatnya penyembuhan luka dan respon imun, regulasi, serta berkurangnya jumlah kelenjar minyak dan luler, terjadi penurunan produksi lipid dan *Natural Moisturizing*

um korneum (Bianti, 2016).

Penuaan intrinsik mengacu pada perubahan fisiologis kulit yang tidak dapat dihindarkan oleh karena proses waktu. Proses ini dipengaruhi beberapa faktor yaitu genetik, hormonal, dan stress oksidatif. Perubahan yang dapat terjadi ialah penurunan produksi kolagen, penurunan aliran darah, penurunan jumlah lipid dan hilangnya rete ridges. Proses ini akan membuat kulit menjadi lebih kering, pucat, timbulnya kerutan halus, elastisitas berkurang, dan menurunnya kemampuan untuk memperbaiki diri. Penuaan intrinsik juga dapat ditandai dengan adanya pertumbuhan tumor jinak akibat gangguan regulasi dari proliferasi sel. Peningkatan dari paparan radikal oksigen spesies (ROS) akibat menurunnya sistem antioksidan tubuh akibat proses menua berkontribusi dalam penuaan intrinsik. Kerusakan oksidatif dapat dicetuskan akibat faktor stres yang dapat menginduksi faktor stres seperti $\text{NF-}\kappa\text{B}$ dan keadaan hipoksia yang memicu pelepasan sitokin seperti IL-1, IL-6, VEGF, dan TNF- α sebagai agen proinflamasi yang mengatur kelangsungan hidup sel serta memodulasi metalloprotein yang mengatur degradasi matriks. Kerusakan ini ditambah dengan penurunan tubuh dalam menghasilkan agen anti radikal bebas sehingga mengganggu fungsi sel normal (Kerns *et al.*, 2019)..

Penuaan ekstrinsik terjadi akibat faktor lingkungan. Paparan sinar ultraviolet menjadi salah satu faktor yang paling dominan. Perubahan struktural dan fungsional akibat paparan sinar ultraviolet dikenal sebagai fotoaging. Beberapa faktor lain yang berkontribusi ialah merokok, diet, paparan bahan kimia, serta polutan udara. Tidak seperti penuaan intrinsik, penuaan ekstrinsik dapat menerima intervensi dan tindakan pencegahan (Kerns *et al.*, 2019).

Lapisan epidermis mengalami perubahan struktural dan fungsional terkait dengan usia. Tingkat pergantian sel epidermis menurun 30-50% antara dekade tiga hingga kedepalan kehidupan, hal ini diikuti pula dengan penurunan kapasitas perbaikan luka. Selain itu, ketebalan epidermis juga ikut menurun dari 10%-50%. Lapisan epidermis yang paling terpengaruh ialah lapisan spinosum. Perubahan paling tampak secara histologis terlihat pada taut dermoepidermal yang menjadi kurang rata serta hilangnya rete ridges mengakibatkan berkurangnya nutrisi. Perubahan lainnya yang terjadi ialah pada sel lain yang ada pada epidermis seperti sel melanosit dan sel Langerhans. Meskipun kepadatan melanosit berlipat ganda pada photodamage kulit, jumlah melanosit fungsional pada lapisan dasar menurun hingga 20% per dekade. Penurunan melanosit ini dikaitkan dengan penurunan melanin pelindung, yang selain kerusakan terkait usia mekanisme perbaikan DNA, berkontribusi terhadap peningkatan risiko kanker kulit pada orang tua. Sel-sel Langerhans dari penuaan kulit mengalami perubahan struktural, misalnya, dendrit yang lebih sedikit dan lebih pendek, dan telah mengurangi kapasitas penyajian antigen berkontribusi pada melemahnya kekebalan kulit pada (Kerns *et al.*, 2019)..



nis mengalami perubahan biokimia terkait usia yaitu pada akan komponen utama dermis dan pembentuk struktur kulit. in kolagen tipe I dan III pada kulit yang menua secara intrinsik oleh kerusakan akibat paparan sinar ultraviolet. Terdapat sintesis kolagen yang signifikan pada kulit. Matriks

metalloproteinase (MMP) meningkat seiring dengan bertambahnya usia. Paparan sinar ultraviolet akut dapat meningkatkan 3 MMP yaitu MMP-1, MMP-3, dan MMP-9 di kulit, dengan epidermis menjadi sumber utama. Paparan sinar ultraviolet yang kronis dapat meningkatkan 7 MMP yaitu MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-9, MMP-11, MMP-17, dan MMP-27 yang berasal dari fibroblast dermal. Kolagen terfragmentasi yang dihasilkan tidak dapat memproduksi tarikan mekanis pada fibroblast sehingga sintesis kolagen terhambat. MMP meningkat aktivitasnya pada dermis karena paparan sinar matahari menyebabkan kelainan homeostasis kolagen dengan peningkatan degradasi dan penurunan produksi kolagen. Elastin yang memberikan elastisitas dan ketahanan pada kulit juga berubah akibat penuaan. Perbuahan serat elastis normal ke bahan elastis yang tidak teratur akibat terdegradasi menjadi tropoelastin dan fibrilin di dekat taut dermoepidermal. Kelainan struktur pada elastin ini menyebabkan gangguan fungsi yaitu hilangnya kelastisitas dan ketahanan pada kulit (Kerns *et al.*, 2019).

1.2.1.1 Photoaging

Sinar matahari terdiri dari cahaya inframerah, cahaya tampak atau *visible light*, dan ultraviolet di permukaan bumi, dengan sebagian besar ultraviolet disaring oleh atmosfer. Lebih dari 95% sinar ultraviolet yang mencapai permukaan bumi adalah UVA (320–400 nm) dan hanya sekitar 5% yang merupakan UVB (280–320 nm). UVA dan UVB ini dapat mempercepat penuaan kulit. Kerusakan DNA langsung, peradangan, dan immunosupresi sebagian besar disebabkan oleh UVB, yang hanya menembus ke dalam epidermis dan dermis yang lebih tinggi. Radiasi UV memengaruhi degradasi dan sintesis kolagen, serta pembentukan bahan elastotik di kulit. Kerusakan kulit menyebabkan mutasi DNA pada mitokondria yang mengakibatkan penurunan fungsi mitokondria dan peningkatan pembentukan *reactive oxygen species* (ROS). Sinar ultraviolet juga secara tidak langsung mengaktifasi matriks metalloproteinase (MMP) dan aktivator protein yang menyebabkan terjadinya degradasi kolagen pada kulit. Sinar ultraviolet juga meningkatkan sitokin proinflamatori and matriks metalloproteinase 1 (MMP)-1 (Kerns *et al.*, 2019).

Bercak hiperpigmentasi *Aging spot* umumnya terjadi pada kulit yang menua. Solar lentigines juga dikenal sebagai senile lentigines adalah bercak hiperpigmentasi yang terdefinisi dengan jelas yang berhubungan dengan paparan sinar ultraviolet dan terutama umum terjadi pada individu berkulit putih. Prevalensi rata-rata solar lentigin yang dilaporkan berkisar antara 10% hingga 90% pada subjek yang lebih tua. Solar lentigo tidak memerlukan pengobatan apa pun. Peran paparan UV



genesis solar lentigin tidak sepenuhnya dipahami, melibatkan melanin dan proliferasi abnormal serta diferensiasi keratinosit. Melasma merupakan penyakit yang ditandai oleh gangguan bersifat terlokalisasi, kronik, dan didapat dengan predileksi di bagian sekitar hidung, dagu, dahi (frontal), dan area tulang. Prevalensi sebesar 10% didominasi usia 20 - 56 tahun dengan rata-rata pada 30,83±7,45 tahun. Manifestasi klinis berupa makula

hiperpigmentasi dengan kontur yang iregular dan memiliki batas tegas. Pemeriksaan dengan lampu Wood dapat menunjukkan perbedaan pigmentasi pada area terkena, warna coklat gelap dan batas tegas jika terletak pada stratum korneum, warna coklat terang dan batas irregular jika terletak pada lapisan bawah epidermis, sedangkan warna biru keabuan jika terletak di lapisan dermis (Handel, 2014).

1.2.2 Mikrobioma

Mikrobioma adalah kumpulan mikroorganisme seperti bakteri, jamur, dan virus yang terdapat di manusia, hewan, dan tumbuhan. Mikrobioma pada kulit manusia menunjukkan keragaman yang tinggi, baik dalam jenis maupun jumlah organisme. Komposisi mikrobioma kulit sangat dipengaruhi oleh faktor intrinsik seperti fisiologi kulit dan usia, serta faktor ekstrinsik seperti lingkungan dan gaya hidup. (Lee dan Kim, 2022) Secara umum terdapat empat filum utama pada mikrobioma kulit yaitu *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria*, dan *Proteobacteria* (Woo dan Kim, 2024)

Keragaman mikroorganisme yang menghuni kulit manusia bervariasi tergantung letak anatomi tubuh yang dipengaruhi oleh karakteristik masing-masing bagian tubuh. Pada area yang memiliki banyak kelenjar sebaceous seperti wajah dan punggung didominasi oleh spesies *Cutibacterium* lipofilik, yang berhubungan erat dengan *acne vulgaris*. Sementara itu pada area yang lebih lembap seperti lekukan siku dan lutut serta sela-sela jari kaki sebagian besar dihuni oleh spesies *Staphylococcus* dan *Corynebacterium* serta *beta-Proteobacteria*. Pada area tubuh yang cenderung kering seperti lengan bawah volar ditemukan sebagian besar oleh spesies *Cutibacterium acnes* dan *Corynebacterium*. Selain bakteri, jamur dan virus juga merupakan bagian dari ekosistem kulit, dengan komposisi yang bervariasi tergantung pada lokasi tubuh dan individu (Lee dan Kim, 2022)

Komposisi mikrobioma kulit mengalami dinamika sepanjang hidup manusia. Pembentukan mikrobioma kulit diduga dimulai dari masa janin karena ditemukannya DNA dalam mikrobioma spesies *Cutibacterium* dan *Staphylococcus* dalam cairan ketuban. Bayi yang dilahirkan pervaginam memiliki komunitas bakteri yang mirip dengan komunitas mikroba vagina ibu yang didominasi oleh *Lactobacillus*, *Prevotella*, atau *Sneathia spp.*, sedangkan bayi yang dilahirkan melalui operasi caesar memiliki komunitas bakteri kulit yang mirip dengan yang ditemukan pada permukaan kulit normal yaitu *Staphylococcus*, *Corynebacterium*, dan *Cutibacterium spp.* Pada masa pubertas mikrobioma kulit mengalami perubahan besar seiring dengan pelepasan hormon seks yang mendorong pematangan kelenjar sebaceous dan produksi sebum sehingga bertransisi menjadi mikrobioma yang lebih dewasa.



m lipofilik di antara bakteri dan *Malassezia* di antara jamur
n penurunan keanekaragaman selama periode ini (Lee dan

nbahnya usia terjadi perubahan komposisi mikrobioma spesies
dewasa muda (21–37 tahun) dan orang dewasa lebih tua (60–
ai lokasi kulit, *Actinobacteria* menunjukkan jumlah yang lebih

rendah pada kelompok usia yang lebih tua pada area pipi, lengan bawah, dan dahi, sementara tiga filum lainnya meningkat. Pada orang lanjut usia memiliki tingkat *Proteobacteria* yang lebih tinggi di lengan bawah dan kulit kepala, serta peningkatan *Firmicutes* dan *Bacteroidetes* di dahi dan pipi. Peningkatan yang signifikan juga terjadi pada genus *Acinetobacter* di kulit kepala dan *Corynebacterium* di pipi dan dahi, sementara terjadi penurunan signifikan pada *Cutibacterium* di dahi, pipi, dan lengan bawah. Selain itu, keberadaan *Staphylococcus* di lengan bawah terlihat lebih rendah pada kelompok usia yang lebih tua dibandingkan dengan orang dewasa yang lebih muda (Skowron et al., 2021).

1.2.2.1 Probiotik, Prebiotik, Sinbiotik dan Postbiotik

Probiotik, prebiotik, sinbiotik, dan postbiotik menunjukkan efektifitas dalam meningkatkan hidrasi kulit, mengurangi kedalaman kerutan, dan bersifat fotoprotektif melalui pemberian oral atau aplikasi topikal (Woo dan Kim, 2024)

Probiotik didefinisikan sebagai mikroorganisme hidup yang ketika diberikan dalam jumlah yang cukup dapat memberikan manfaat kesehatan. Mikroorganisme ini harus stabil secara biologis dan genetik, memiliki sifat sensorik yang baik, biaya rendah, mempertahankan kelangsungan hidup selama pemrosesan dan penyimpanan, dan fisikokimia makanan ketika digunakan sebagai aditif makanan. Probiotik yang paling umum yaitu keluarga gram positif *Bifidobacterium* dan *Lactobacillus*. Spesies tersebut mengurangi lipopolisakarida penyebab inflamasi dan melepaskan molekul aktif yang dapat mempertahankan usus dan kulit tetap sehat. Probiotik oral dan topikal juga telah diteliti sebagai salah satu strategi terapi potensial untuk penuaan kulit dan menunjukkan hasil yang menjanjikan (Woo dan Kim, 2024).

Lactobacillus plantarum merupakan probiotik yang secara umum merupakan agen anti aging karena mekanisme yaitu menginduksi keratinosit dan sebosit untuk menghasilkan AMP atau metabolit lain yang dapat secara langsung menghambat atau membunuh mikroorganisme patogen, membentuk komunitas mikroba, dan membangun efek sinergis yang meningkatkan ekologi komunitas mikroba kulit. Kemampuan probiotik untuk menyerang dan melekat pada keratinosit, mendorong penghambatan pengikatan patogen ke sel-sel sehingga probiotik dapat digunakan untuk mengurangi adhesi beberapa patogen ke kulit. (De Almeida, Antiga dan Lulli, 2023)

Mikroorganisme probiotik harus bersifat non-patogen dan tidak beracun untuk konsumsi manusia. Probiotik tidak boleh mempengaruhi rasa, tekstur, dan harus bertahan dalam makanan probiotik dalam konsentrasi yang cukup besar sampai dikonsumsi. Berbagai penelitian yang dilakukan pada pasien dermatitis probiotik seperti *lactobacilli*, *bifidobacteria* atau kombinasinya (herwright, 2020). Prebiotik adalah polisakarida nondigestible, fructans dan galactooligosaccharides yang dapat ditemukan di alam dan bahan makanan. Fermentasi bakteri karbohidrat akan produksi asam lemak rantai pendek (SCFA) seperti asam laktat atau asam propionat. Prebiotik dan SCFA sangat penting untuk mendukung sistem kekebalan tubuh, dapat menjadi sumber energi



untuk mikrobiota usus, dan memiliki sifat antagonis terhadap bakteri usus yang merugikan. Selain itu, banyak penelitian eksperimental telah membuktikan bahwa prebiotik dapat membantu mengurangi keparahan penyakit tertentu seperti diabetes, sindrom *irritable bowel syndrome* (IBS), penyakit menular dan mengurangi risiko kanker usus besar (Chudzik, A. *et al.*, 2021).

Sinbiotik merupakan produk gabungan probiotik dan prebiotic yang dianggap bermanfaat untuk penuaan kulit. Dalam suatu studi di Jepang yang melibatkan 600 wanita yang sehat diberikan rejimen harian *B. breve* strain Yakult dan GOS selama 4 minggu menghasilkan peningkatan signifikan dalam hidrasi kulit, peningkatan aktivitas cathepsin-L yang berfungsi dalam diferensiasi keratinosit dan penurunan kadar fenol serum dan urin (Woo dan Kim, 2024).

Postbiotik merupakan hasil metabolit dari bakteri yang berbentuk senyawa bioaktif yang dihasilkan selama proses fermentasi juga menunjukkan potensi terhadap penuaan kulit (Malagón-Rojas *et al.*, 2020). Ruang lingkup postbiotik sebagai sel mikroba yang sengaja dinonaktifkan, dengan atau tanpa metabolit atau komponen sel yang berkontribusi terhadap Kesehatan. Komponen postbiotik yang digunakan saat ini antara lain fragmen dinding sel, egzopolisakarida, enzim, bakteri lisat dan csu pematang. Berbagai komponen postbiotik ini didapatkan dengan cara melisis sel bakteri dengan berbagai metode baik teknik kimia maupun mekanikal seperti sonifikasi, pemanasan dan enzimatik. Meskipun postbiotik tidak mengandung mikroorganisme yang hidup namun memberikan keuntungan dengan mekanisme yang hampir serupa dengan probiotik (Chudzik *et al.*, 2021).

Krim postbiotik topikal yang mengandung lisat yang bersumber dari *Streptococcus thermophilus* terbukti meningkatkan lipid startum korneum dan menurunkan kehilangan air dari kulit. Selain itu penggunaan krim topikal yang mengandung filtrat fermentasi *Epidermidibacterium Keratini* EPI-7 selama 3 minggu sebanyak dua kali sehari menunjukkan peningkatan penting dalam hidrasi, elastisitas, dan kepadatan kulit (Kim J. *et al.*, 2023). Penggunaan filtrat fermentasi EPI-7 dikaitkan dengan peningkatan mikroorganisme komensal kulit seperti *Cutibacterium*, *Corynebacterium*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Clostridium*, *Lawsonella*, *Rothia*, *Lactobacillus*, dan *Prevotella* (Kim J. *et al.*, 2023).

1.2.2.2 *Lactobacillus plantarum*

Lactobacillus plantarum merupakan bakteri gram positif berukuran 3-8 um, berbentuk basil atau batang, termasuk kedalam order Lactobacillales yang dapat menghasilkan asam laktat, termasuk kedalam filum Firmicutes yang memiliki dinding sel yang tebal. *Lactobacillus plantarum* dapat menempati berbagai habitat ekologis,



seperti lingkungan tanah, tanaman, makanan fermentasi dan sebagai komensal pada tubuh manusia. Bakteri ini memiliki keragaman strain. *L. plantarum* memiliki sifat-sifat fenotipik, seperti produksi metabolit dan enzim (Dore *et al.*, 2019)

L. plantarum ini mencakup berbagai spesies bakteri yang sangat penting untuk kesehatan. *Lactobacillus plantarum* sering digunakan dalam produksi makanan fermentasi seperti acar, sauerkraut, kimchi, dan

yoghurt. Bakteri ini juga ditemukan secara alami pada tubuh manusia, terutama di gastrointestinal, urogenital, dan kulit. (Dore et al, 2019) *Lactobacillus plantarum* yang merupakan salah satu jenis mikrobiota komensal pada kulit memegang peran dalam menjaga keseimbangan komposisi mikrobiota kulit. *Lactobacillus* ditemukan paling banyak pada kulit manusia usia 20-30 tahun (Kim et al, 2019).

Lactobacillus plantarum banyak digunakan dalam studi mengenai potensi mikrobiom dalam menjaga kesehatan kulit. Perannya dalam terapi penyakit dan gangguan kulit seperti dermatitis atopi, jerawat, rosasea, seboroik dan penyembuhan luka telah banyak dilaporkan. Exopolysakarida (EPS) yang diproduksi *Lactobacillus plantarum* membuat bakteri ini memiliki berbagai macam potensi biologis lainnya sebagai agen antiaging, antioksidan dan proteksi terhadap sinar matahari dan penghambatan hiperpigmentasi. Studi secara *in vitro* *Lactobacillus plantarum* berpotensi mencegah fotogaging dengan menginhibisi ekspresi MMP-1 pada fibroblast mencit. Studi klinis lain yang menguji efektivitas *Lactobacillus plantarum* oral selama 12 minggu didapatkan perbaikan klinis hidrasi kulit, tingkat kecerahan kulit, elastisitas kulit dan perbaikan dari klinis kerutan dibandingkan dengan plasebo (Kim et al., 2015).

1.2.3 Mikrobioma dan Penuaan

Mikrobiota pada kulit memiliki peranan penting dalam menjaga homeostatis dan berkontribusi sebagai pada fungsi perlindungan kulit terhadap lingkungan dan patogen. Bakteri komensal berkompetisi untuk mendapatkan nutrisi serta tempat dengan menginhibisi kompetitor menggunakan produksi peptida antimikrobal. Mikrobiota kulit menjaga homeostasis dengan cara mensekresikan enzim seperti protease yang berperan pada reepitelisasi stratum korneum, lipase yang berfungsi mengontrol pemecahan lemak dan urease yang berperan pada degradasi enzim. Selain itu juga mikrobiota kulit berperan dalam mengoptimalkan pH kulit serta berperan dalam sistem imun adaptif maupun seluler (Woo dan Kim, 2024).

Perubahan lingkungan mikro kulit yang berkaitan dengan usia mempengaruhi komposisi mikroba kulit. Pada kulit yang menua terjadi reduksi ukuran pembuluh darah, kelenjar sebaceous, kelenjar keringat dan penurunan suplai nutrisi. Selama proses penuaan, pH kulit cenderung meningkat sehingga menjadi lebih basa. Kondisi ini menciptakan lingkungan yang lebih kondusif bagi mikroorganisme patogen untuk dapat berkembang di kulit. Secara keseluruhan pada kulit yang menua, kulit menjadi lebih kering dan basa, yang menyebabkan ketidakseimbangan komposisi mikrobioma, yang seharusnya dominan terdapat pada kulit seperti *Cutibacterium* dan *Staphylococcus* dan secara bersamaan

jumlah mikrobioma komensal (Woo dan Kim, 2024)

Salah satu faktor intrinsik seperti genetik dan jenis kelamin dan faktor ekstrinsik seperti polusi, paparan sinar ultraviolet, iklim, dan gaya hidup mempengaruhi mikrobiota kulit serta berhubungan dengan terjadinya studi kohort tentang diversitas mikrobiota kulit dilaporkan pada usia 21-36 tahun dibandingkan dengan populasi 60-75 tahun



terdapat peningkatan Corinebakter dan Acinobakter pada kelompok populasi yang lebih tua. Pada studi lain di Amerika Utara melaporkan Corinebakteri meningkat pada populasi yang lebih tua. Studi di Korea membandingkan populasi *Lactobacillus plantarum* pada wanita berusia 20 tahun dan 50 tahun didapatkan bahwa *Lactobacillus plantarum* lebih banyak pada wanita yang berusia 20 tahun dan terdapat kolerasi antara penurunan *Lactobacillus plantarum* dengan penuaan (Jo C.S et al, 2022).

Probiotik yang mengandung *Lactobacillus* dan *Bifidobacterium* sebagai agen nutrikosmetik seringkali dikaitkan dengan penuaan dengan tanda penuaan perubahan pH kulit, peningkatan stress oksidatif, kerusakan akibat UV, serta disfungsi sawar kulit. (Woo dan Kim, 2024). Pada kulit yang menua terjadi penurunan *Lactobacillus spp.* Pemberian mikrobioma dapat memodulasi fisiologi kulit, sehingga menyediakan lingkungan yang lebih ramah bagi mikrobioma, yang memungkinkan kolonisasi selanjutnya modulasi mikrobioma dapat memperbaiki penuaan (Falholt Elvebakken *et al.*, 2023). Mikrobioma juga dapat secara langsung mengeluarkan faktor antimikroba seperti bakteriosin, modulin yang larut dalam fenol, asam propionat, dan peptida antimikroba (AMP) atau secara tidak langsung mempersiapkan sistem imun untuk menyerang patogen. Mikrobioma juga dapat meningkatkan toleransi imun dan mengurangi peradangan (Yu *et al.*, 2020).

1.2.4 Mikrobioma dan Melanogenesis

Melanin merupakan pigmen yang bertanggung jawab atas warna mata, kulit, dan rambut, disekresikan oleh melanosit yang berada dalam lapisan basal dermis. Peran melanin sangat penting sebagai proteksi kulit dari kerusakan akibat sinar ultraviolet (UV) dengan cara menyerap sinar ultraviolet dan menghilangkan spesies oksigen reaktif (ROS) (Patra *et al.*, 2020). Sintesis melanin terjadi di melanosome yang mana jumlah melanosit berbeda pada setiap orang dari ras yang berbeda, selain itu perbedaan pigmentasi disebabkan oleh perbedaan jumlah dan kualitas melanin di kulit, yang sebagian besar ditentukan oleh variabilitas jumlah, ukuran, distribusi, dan fungsi melanosom di dalam keratinosit. Tahap I melanosom dapat diakses oleh senyawa pelacak endositosis dan secara morfologis menyerupai badan multivesikular awal yang berasal dari jalur endosomal, mereka tampaknya terbentuk secara independen dari mesin kompleks penyortiran endosomal yang diperlukan untuk transportasi (ESCRT) yang diperlukan untuk jalur tubuh multivesikular klasik (Del Bino, Duval and Bernerd, 2018).

Enzim melanogenik dipasok ke melanosom tahap II ketika jaringan PMEL fibrillar telah terbentuk, memungkinkan produksi melanin dimulai. Kompartemen I berperan penting dalam pengiriman muatan (tirosinase, TYRP1, yang matang. Tahap IV melanosom pertama kali ditransfer ke inspor anterograde yang bergantung pada mikrotubulus yang n. Setelah transfer ke keratinosit, melanosom ditransfer oleh ang dimediasi dynein ke lokasi perinuklear ("*nuclear capping*")



untuk melindungi keratinosit basal dari kerusakan DNA akibat ultraviolet (Del Bino, Duval and Bernerd, 2018)..

Enzim utama yang berperan dalam melanogenesis adalah tirosinase (TYR) yang memediasi proses pertama sintesis melanin, yaitu hidrosilasi asam amino tirosin menjadi senyawa L-3,4-dihidroksifenilalanin (DOPA) dan dilanjutkan proses oksidasi membentuk DOPAquinone. DOPAquinone kemudian berinteraksi dengan asam amino sistein untuk memproduksi senyawa 5-S-sisteinildopa (5SCD) dan 2-S-sisteinildopa (2SCD). Sisteinildopa akan teroksidasi DOPA-quinone untuk membentuk intermediet benzothiazine dan selanjutnya mengalami polimerisasi secara bertahap membentuk pigmen feomelanin. Pada saat asam amino sistein masuk ke dalam melanosom, DOPAquinone akan bereaksi membentuk 5,6-dihidroksindole (DHI) dan 5,6-di-hidroksindole-2-asam karboksilat (DHICA) melalui DOPochrome. Produksi DHICA diakse-lerasi oleh DOPochrome tautomerase (DCT) atau disebut dengan protein 2-tirosinase (TRP2) atau ion tembaga. DHI kemudian akan teroksidasi kembali oleh protein 1-tirosinase (TRP1) untuk membentuk polimer dari eumelanin. Pigmen eumelanin memiliki efek fotoprotektif dengan membatasi penetrasi radiasi ultraviolet dalam epidermis serta mengurangi produksi dari stres oksidatif atau radikal bebas. Efek ini berkebalikan dengan feomelanin yang memperburuk kerusakan sel (Del Bino, Duval and Bernerd, 2018).

Melanocyte inducing Transcription Factor (MITF) memainkan peran penting dalam melanogenesis sebagai aktivator transkripsi tirosinase, TRP-1, dan TRP-2. Penelitian sebelumnya mengungkapkan bahwa tiga jalur pensinyalan utama untuk mengatur melanogenesis yaitu jalur yang dimediasi protein kinase C (PKC), jalur yang dimediasi pensinyalan *cyclic adenosine monophosphate* (cAMP), dan jalur yang dimediasi oleh *mitogen-activated protein kinase* (MAPK). Dari jumlah tersebut, cAMP yang terlibat dalam melanogenesis melalui jalur pensinyalan fosfatidilinositol 3-kinase (PI3K)/AKT, Wnt/beta-catenin, dan GSK3beta, mengatur melanogenesis melalui ekspresi MITF dan tirosinase. Jalur extracellular persinyalan jalur *extracellular signal-regulated kinase* (ERK) mempengaruhi sintesis melanin melalui mekanisme umpan balik negatif yang melibatkan cAMP (Kim et al, 2015). Mekanisme transpor melanosom secara teoritis dibagi menjadi 3 cara, antara lain melalui (1) inokulasi langsung ke dalam keratinosit melalui membran nontubular dari filopoda melanosit, (2) jalur fagositik dimana melanosit akan mensekresikan melanosom lalu akan ditelan oleh keratinosit, serta (3) sitofagositik parsial dimana pembentukan melanosom terjadi di bagian ujung dari dendrit melanosit yang kemudian ditransfer menuju keratinosit yang lokasinya berdekatan dengan dendrit tersebut (Suryaningasih, 2020).



plantarum merupakan bakteri gram positif mengandung asam laktat. Secara umum LTA dapat menurunkan produksi sitokin seperti TNF- α dan interleukin-6 (IL-6). Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa penambahan LTA dapat meningkatkan melanogenesis pada sel melanoma tikus dengan menggunakan LTA yang sangat murni dari *Lactobacillus plantarum* (pLTA). Asam laktat dari *Lactobacillus plantarum* mengaktifkan ERK dan PI3K/AKT yang mana pLTA yang dihasilkan pada serine 73 pada akhirnya dapat menyebabkan

degradasi MITF sehingga mengurangi melanogenesis. *Down-regulasi* MITF kemudian mengakibatkan penurunan ekspresi anggota keluarga tirosinase dan aktivitasnya, yang pada akhirnya menurunkan produksi melanin. pLTA juga memiliki menyebabkan gangguan pada stabilitas mRNA protein melanogenik seperti MITF, tirosinase, TRP-1, dan TRP-2, yang menyebabkan penghambatan melanogenesis (Kim *et al.*, 2015)

1.2.5 Alat Diagnostik

1.2.5.1 pH Meter

Alat pH Meter adalah alat yang digunakan untuk mengukur tingkat pH kulit. Pengukurannya pH permukaan kulit paling sering diukur menggunakan elektroda kaca planar dengan permukaan datar berdiameter 10 mm yang dihubungkan ke voltmeter (Du Plessis *et al.*, 2018).

Elektroda kaca dengan permukaan pengukur datar atau planar, dirancang oleh Ingold, pertama kali digunakan oleh Schirren untuk mengukur pH permukaan kulit. Elektroda planar dengan satu unit yang berisi elektroda aktif dan referensi atau elektroda gabungan merupakan metode yang digunakan saat ini untuk mengukur pH permukaan kulit (Du Plessis *et al.*, 2018).

1.2.5.2 Mexameter

Mexameter adalah alat yang mengukur dua komponen utama pigmen kulit yaitu melanin dan hemoglobin. Pengukuran dengan alat reflektan sederhana ini didasarkan pada penyerapan/pantulan cahaya dari kulit. Pada instrumen ini, 16 dioda pemancar cahaya (LED) yang disusun secara melingkar memancarkan cahaya pada 3 panjang gelombang cahaya spesifik: 568, 660 dan 870 nm, yang masing-masing sesuai dengan cahaya hijau, merah dan inframerah. Fotodetektor mengukur cahaya yang dipantulkan oleh kulit. Saat kuantitas cahaya yang dipancarkan ditentukan, kuantitas cahaya yang diserap oleh kulit dapat dihitung. Mexameter menyediakan pengukuran cahaya yang diserap dan dipantulkan pada panjang gelombang hijau dan merah untuk hemoglobin dan panjang gelombang merah dan inframerah dekat untuk melanin. Indeks melanin dihitung dari intensitas cahaya yang diserap dan dipantulkan masing-masing pada 660 dan 880 nm. Indeks eritema dihitung dari intensitas cahaya yang diserap dan dipantulkan masing-masing pada 568 dan 660 nm. Hasilnya dinyatakan sebagai nilai indeks untuk setiap parameter seperti indeks melanin dan indeks eritema dalam satuan skala dari 0 hingga 999. Bagian tubuh yang menyerap cahaya lebih banyak memiliki kadar melanin yang lebih tinggi dan memiliki warna lebih gelap dibandingkan bagian lain.

1 pantulan cahaya lebih banyak memiliki kadar melanin lebih (2015).

r
s konvensional, diagnosis dilakukan dengan mengandalkan
atan semata. Hal ini dapat dijadikan diagnosis yang bersifat



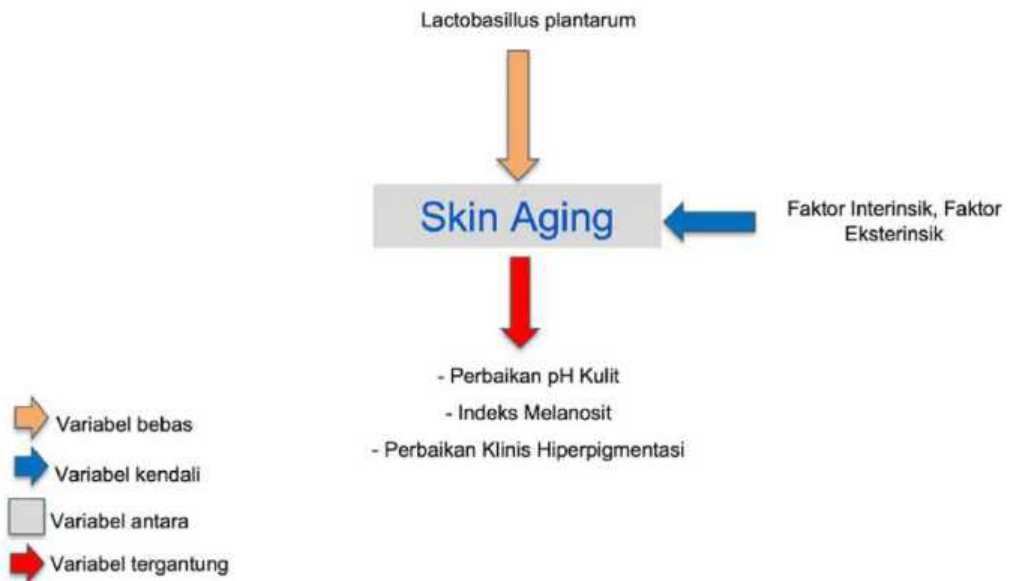
subjektif dan bergantung pada persepsi para dokter. Pemeriksaan seperti ini memiliki kekurangan pada sisi analisis secara klinis instrumental dan tidak adanya rekaman hasil pemeriksaan yang mudah dipahami pasien (Aramo, 2012). Skin analyzer merupakan sebuah perangkat yang dirancang untuk mendiagnosis keadaan pada kulit. Skin analyzer mempunyai sistem terintegrasi untuk mendukung diagnosis dokter yang tidak hanya meliputi lapisan kulit teratas, melainkan juga mampu memperlihatkan sisi lebih dalam dari lapisan kulit. Tambahan rangkaian sensor kamera yang terpasang pada *Skin analyzer* menampilkan hasil dengan cepat dan akurat (Aramo, 2012). Pada penelitian ini pigmentasi dan *UV spots* dianalisis menggunakan skin analyzer.

1.2.5.4 Chromameter

Chromameter adalah alat yang mampu mengukur semua warna pada kulit. Dengan instrumen ini, permukaan kulit disinari oleh lampu busur xenon yang berdenyut. Warna kulit ditentukan oleh berbagai komponen, seperti paparan sinar matahari, obat, dan substansi iritan. Respon warna kulit dapat menjadi indikator dari properti kulit seperti *skin barrier* dan tingkat sensitivitas yang salah satu pemeriksaan dari warna kulit menggunakan Chromameter, seperti Konica Minolta *Chroma-meter* CR-400 (Clarys *et al.*, 2000). Chromameter bersifat objektif dan *reproducible* secara kuantitatif dan kualitatif merefleksikan sumber standar dari cahaya monokromatik pada kulit. Cahaya yang dipantulkan tegak lurus ke permukaan dikumpulkan untuk analisis warna tristimulus pada 450, 560 dan 600 nm, menggunakan sistem warna $L^*a^*b^*$, sebagaimana ditentukan oleh CIE. Secara khusus, sistem $L^*a^*b^*$ sangat mudah dipahami, dengan parameter L^* menyatakan kecerahan warna (bervariasi antara nilai 100 untuk permukaan putih dan 0 untuk permukaan hitam. Parameter a^* merepresentasikan perubahan sepanjang sumbu merah-hijau dengan perubahan dari +60 untuk permukaan merah menjadi -60 untuk permukaan hijau. Parameter b^* berubah dari +60 untuk permukaan kuning menjadi -60 untuk permukaan biru. Chromameter tidak memberikan informasi tentang zat yang menghasilkan warna berbeda dengan dua instrumen lainnya, yang mengukur panjang gelombang kromofor tertentu (Clarys *et al.*, 2000).



1.2.7 Kerangka Konsep



Gambar 1.2 Kerangka Konsep

1.3 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian pada latar belakang masalah di atas, maka disusun perumusan masalah sebagai berikut:

1. Apakah Mikrobiom topikal yang mengandung *Lactobacillus plantarum* dapat memberikan perbaikan pH kulit sebagai agen anti-aging.
2. Apakah Mikrobiom topikal yang mengandung *Lactobacillus plantarum* dapat memberikan perbaikan indeks melanin sebagai agen anti-aging.
3. Apakah Mikrobiom topikal yang mengandung *Lactobacillus plantarum* dapat memberikan perbaikan klinis hiperpigmentasi sebagai agen anti-aging.

1.4 Tujuan Penelitian

1.4.1 Tujuan Umum



fitas mikrobiom topikal yang mengandung *Lactobacillus* jen anti aging.

si perbaikan pH kulit setelah pemberian mikrobiom topikal yang *obacillus plantarum*.

2. Untuk mengetahui perbaikan indeks melanin setelah pemberian mikrobiom topikal yang mengandung *Lactobacillus plantarum*.
3. Untuk mengetahui perbaikan klinis hiperpigmentasi pada kulit setelah pemberian mikrobiom topikal yang mengandung *Lactobacillus plantarum*.

1.5 Hipotesis Penelitian

1. Mikrobiom topikal yang mengandung *Lactobacillus plantarum* efektif memperbaiki pH kulit.
2. Mikrobiom topikal yang mengandung *Lactobacillus plantarum* efektif dalam menurunkan indeks melanin.
3. Mikrobiom topikal yang mengandung *Lactobacillus plantarum* efektif memberikan perbaikan klinis hiperpigmentasi kulit.

1.6 Manfaat Penelitian

1. Manfaat teoritik

Hasil penelitian ini dapat digunakan untuk menjadi bahan acuan dan menambah pengetahuan khususnya tentang efektifitas topikal mikrobiom yang mengandung *Lactobacillus plantarum* sebagai agen baru yang dapat digunakan sebagai agen anti-aging

2. Manfaat metodologi

Hasil penelitian ini dapat menjadi sumber rujukan bagi peneliti selanjutnya yang ingin meneliti tentang efektifitas mikrobiom sebagai agen anti-aging

3. Manfaat aplikatif

Hasil penelitian ini dapat digunakan untuk meningkatkan pelayanan masyarakat dalam pemilihan agen anti-aging.



BAB II METODE PENELITIAN

2.1 Design Penelitian

Penelitian ini menggunakan desain penelitian *true-experimental, double-blind, pre- and post-treatment randomized controlled clinical trial*.

2.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Unit Rawat Jalan Rumah Sakit Pendidikan Universitas Hasanuddin. Waktu Penelitian yaitu bulan Januari 2024-Oktober 2024

2.3 Populasi Penelitian

Penelitian ini akan dilakukan pada individu yang berusia antara 30-60 tahun. Semua subjek yang berpartisipasi pada penelitian ini akan memberikan kesediannya berupa *informed consent* secara tertulis sebelum penelitian dilakukan.

2.4 Sampel Penelitian

Sampel penelitian adalah individu yang telah memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi yang terbagi menjadi kelompok perlakuan dan kelompok kontrol.

2.5 Jumlah Sampel

Penentuan jumlah sampel dihitung menggunakan rumus uji beda rata-rata analitik berpasangan:

$$n = \left[\frac{(Z\alpha + Z\beta) \times S}{X1 - X2} \right]^2 \quad n = \left[\frac{(1,96 + 1,28) \times 16,34}{67,5 - 57,5} \right]^2$$

$$n = \left[\frac{52,94}{10} \right]^2$$

$$n = 27,04 = 27 \text{ sampel}$$

Berdasarkan formula diatas maka didapatkan perhitungan besar sampel minimal (n) sebanyak 27 subyek. Sebagai antisipasi terhadap adanya subyek yang *drop-out*, maka minimal sampel ditambah 20% cadangan. Sehingga jumlah sampel adalah 40 subyek. Subjek ini akan dibagi menjadi 2 kelompok, yaitu kelompok yang mendapatkan serum *Lactobacillus plantarum* dan kelompok yang mendapatkan serum plasebo.



h wanita berusia 30 tahun sampai 60 tahun ditemukan keadaan inflamasi pada wajah. iliki kriteria skin aging menurut Glogau kelas I-III dimana tan saat subjek berekspresi yang diperiksa oleh dokter.

- Subjek memiliki keluhan bercak kecoklatan pada wajah atau *aging spots* seperti melasma tipe epidermal atau melasma tipe campuran.
- Subjek mengerti instruksi dan protokol yang diberikan.
- Aktivitas subjek sehari-hari jarang terpapar sinar matahari pada siang dan sore hari
- Bersedia untuk mengikuti penelitian dan menandatangani lembar *informed consent*.

2.6.2 Kriteria eksklusi

- Subjek sedang hamil dan menyusui
- Subjek sedang menggunakan terapi / pengobatan perawatan kulit
- Subjek melakukan tindakan pada wajah dalam 6 bulan terakhir seperti botox, filler, thread lift, HIFU
- Mempunyai riwayat alergi terhadap komposisi bahan pelembab maupun tabir surya
- Pasien perokok rutin dalam 12 bulan sebelum penelitian
- Pasien yang telah mengikuti penelitian lainnya 1 bulan sebelum penelitian

2.6.3 Kriteria *drop out*

Drop out yaitu kriteria yang apabila dijumpai menyebabkan objek tidak dapat melanjutkan sebagai sample dalam penelitian. *Kriteria drop out* pada penelitian ini sebagai berikut:

- Responden penelitian tidak mengikuti penelitian selama lebih dari 2 minggu berturut-turut.
- Responden tidak mengikuti prosedur dengan tertib.
- Responden memiliki salah satu kriteria eksklusi

2.7 Izin Penelitian dan Kelayakan Etik

Penelitian ini dilakukan setelah disetujui oleh Komite Etik Penelitian Kesehatan (KEPK) Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin dan dilakukan sesuai dengan pedoman:

- Standards and Operational Guidance for Ethics Review of Health-Related Research with Human Participants Geneva: World Health Organization; 2011
- International Ethical Guidelines for Health-related Research Involving Humans, Fourth Edition. Geneva. Council for International Organizations of Medical Sciences (CIOMS 2016)
- Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia No.11 Tahun 2017 tentang Keselamatan Pasien.



adalah :
non 1300D 18 MP

- Chromameter
- Skin analyzer
- Lampu Wood
- Penggaris

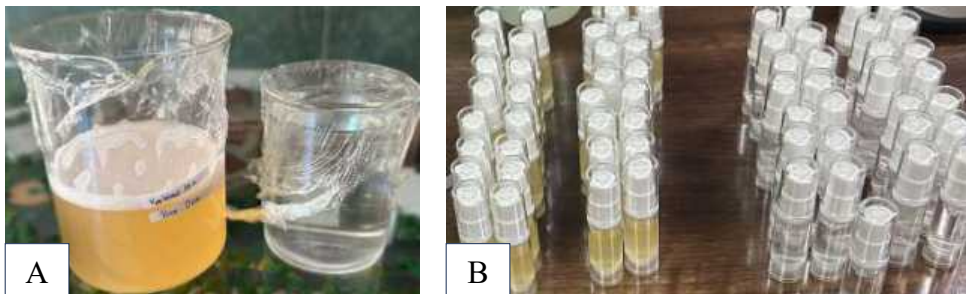
Bahan yang digunakan adalah:

Serum mikrobiom topikal yang mengandung *Lactobacillus plantarum* ATCC8014 10^7 CFU/g dan serum plasebo.

2.9 Prosedur Penelitian

2.9.1 Cara pembuatan serum *Lactobacillus plantarum*

Isolat bakteri *Lactobacillus plantarum* ATCC8014 yang telah dikultur pada media MRS disiapkan. Sebanyak 200 ml serum mikrobiom *Lactobacillus plantarum* dibuat dengan langkah pertama yaitu carbomer 940 sebanyak 1 gr direndam ke dalam aquadest yang dicukupkan hingga 200 ml selama 12 jam. Kemudian untuk menetralkan kadar asam pada carbomer maka ditambahkan triethanolamine sebanyak 2 gr lalu dihomogenkan menggunakan homogenazyr 1500 rpm selama 15 menit. Masukan mikrobiom *Lactobacillus plantarum* 10^8 CFU/g, lalu tambahkan propylene glycol sebanyak 20 gr dan gliserin sebanyak 10 gr, lalu dihomogenkan kembali selama 15 menit. Pada akhirnya didapatkan serum mikrobiom yang mengandung *Lactobacillus plantarum* 10^7 CFU/g. Serum mikrobiom *Lactobacillus plantarum* ini telah dibuat sesuai *pharmaceutical grade* yang memenuhi uji karakteristik fisik yaitu pH, viskositas dan dispersivitas, sehingga layak untuk digunakan pada subjek.



Gambar 2.1 Alat dan bahan pembuatan serum. (A) Serum *L. plantarum* dan serum plasebo. (B) Kemasan serum yang diberikan pada subjek

2.9.2 Persiapan Sampel Penelitian



Optimized using
trial version
www.balesio.com

litan diajukan ke Komite Etik Penelitian Fakultas Kedokteran nuddin untuk mendapatkan persetujuan (*Ethical Clearance*). an setelah rancangan penelitian disetujui oleh Komisi Etik. i diberi penjelasan mengenai penelitian yang akan dilakukan, cara sukarela ikut dalam penelitian, maka diminta untuk *informed consent*. Pada penelitian ini dilakukan anamnesis, s, pengambilan dokumentasi menggunakan kamera digital,

pemeriksaan menggunakan pH Meter, Mexameter, Chromameter dan Skin Analyzer.

2.9.3 Pelaksanaan Sampel Penelitian

- Kunjungan pertama dilakukan seleksi pasien yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi dengan anamnesis dan pemeriksaan fisis. Pengambilan data melalui anamnesis yaitu identitas pasien, keluhan utama, perjalanan penyakit dan riwayat subjek sedang menggunakan terapi / pengobatan perawatan kulit, subjek melakukan tindakan pada wajah dalam 6 bulan terakhir seperti botox, *filler*, *thread lift*, HIFU, mempunyai riwayat alergi terhadap komposisi bahan pelembab maupun tabir surya. Dilanjutkan dengan Pemeriksaan fisis meliputi status generalis dan status dermatologi untuk menentukan derajat *skin aging* menurut skala Glogau dan menentukan jenis hiperpigmentasi.
- Subjek dibagi menjadi 2 kelompok yaitu Perlakuan dan Kontrol dimana setiap kelompok dan peneliti tidak mengetahui kandungan yang terkandung pada lotion yang diberikan pada kedua kelompok.
- Dilakukan dokumentasi foto wajah pada tiga posisi yaitu wajah bagian depan, wajah bagian kanan dan kiri dengan kemiringan 45 derajat dan dilanjutkan dengan pengukuran *baseline* menggunakan alat pH Meter, Mexameter, Chromameter dan Skin Analyzer.
- Dilakukan pemeriksaan pH Kulit menggunakan alat pH Meter pada area 1 cm dari kantung lateral mata kanan dan kiri. (Gambar 1)
- Dilakukan pemeriksaan derajat hiperpigmentasi kulit menggunakan mexameter dan Chromameter pada area 6 cm dari garis tengah hidung pada kedua pipi kanan dan kiri. Pada alat mexa meter akan didapatkan rata-rata indeks melanin dan indeks eritema, sedangkan pada alat Chromameter akan didapatkan nilai L untuk menilai tingkat kecerahan, nilai A untuk menilai warna kulit spektrum merah-hijau dan nilai B untuk menilai warna kulit spektrum biru-kuning (Gambar 1).
- Dilakukan pemeriksaan hiperpigmentasi kulit menggunakan *skin analyzer* pada wajah sisi depan untuk mendapatkan tingkat pigmentasi dan *UV Spots* pada kulit pasien.
- Pemberian serum mikrobiom yang mengandung *Lactobacillus plantarum* topikal dan serum plasebo (serum A dan serum B) yang diberikan secaraacak pada masing-masing kelompok.



itian Perlakuan dan Kontrol diminta untuk mengoleskan serum yang mengandung *Lactobacillus plantarum* topikal dan serum pada kedua pipi kanan dan atas hingga pinggir mata kanan dan kiri masing-masing sebanyak 1 pump (0.15 ml) pada pagi dan malam hari. Setelah itu, subjek mencuci muka menggunakan sabun wajah.

- Kunjungan kedua dan ketiga yaitu pada rentang waktu 2 minggu, dilakukan dokumentasi wajah tiga posisi, pengukuran pH kulit, Mexameter, Chromameter dan Skin Analyzer.
- Kunjungan keempat dan kelima yaitu masing masing dalam rentang waktu 4 minggu, dilakukan dokumentasi wajah tiga posisi, pengukuran pH kulit, Mexameter, Chromameter dan Skin Analyzer.



Gambar 2.2 Pelaksanaan sampel penelitian. (A) Landmark untuk pengukuran hiperpigmentasi pada kedua pipi kanan dan kiri menggunakan alat mexameter dan Chromameter (titik A) dan pengukuran pH kulit pada (titik B). (B) Pengukuran pH meter. (C) Pengukuran Chromameter. (D) Pengukuran Skin Analyzer. (E) Pengukuran Mexameter

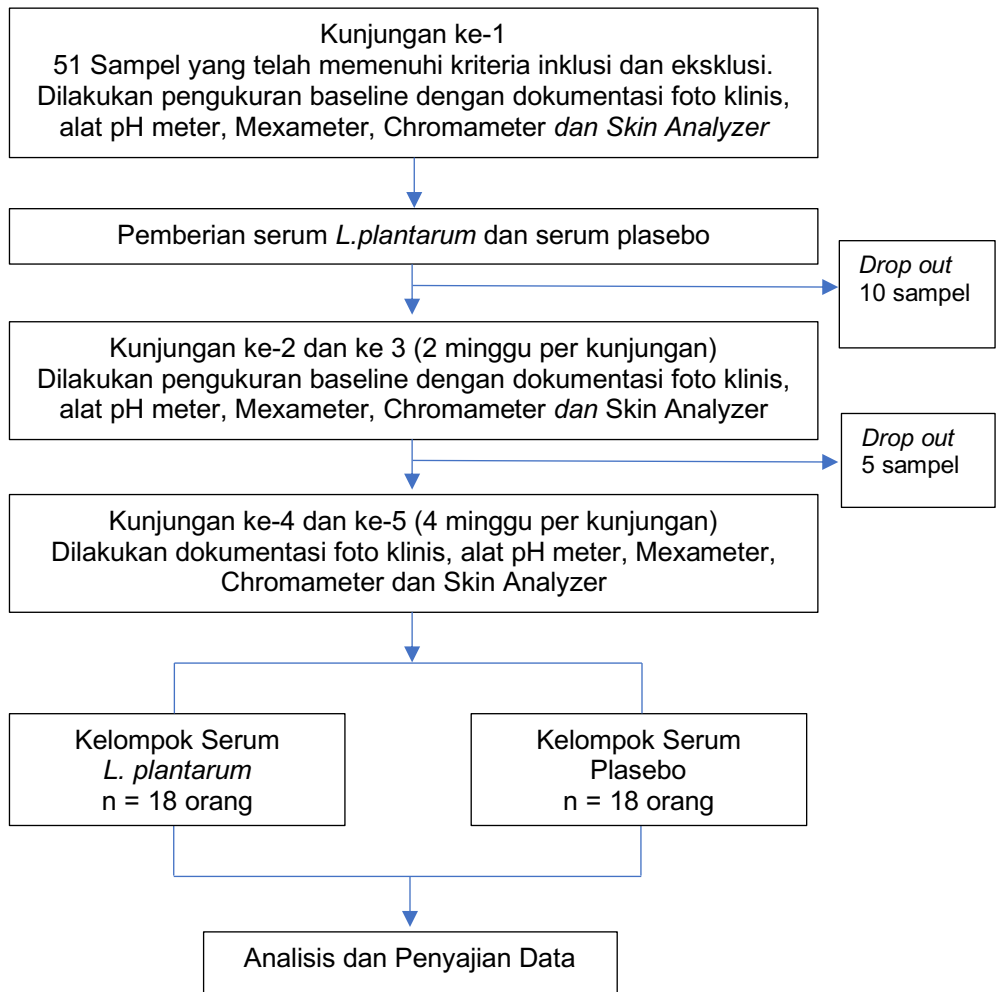


an Pencatatan

atan terhadap perkembangan perbaikan pH kulit dan klinis adap masing-masing kelompok pada minggu ke-2, minggu ke-12

baikan pH kulit dan klinis hiperpigmentasi dinilai menggunakan Mexameter, Chromameter dan Skin Analyzer.

2.10 Skema Alur Penelitian



Gambar 2.3 Alur Penelitian

2.11 Identifikasi Variabel

1. Variabel bebas : Serum Mikrobiom topikal yang mengandung *Lactobacillus plantarum*



Subjek penelitian (berusia 30-60 tahun, dengan derajat kulit ajat II-III, *aging spots seperti* melasma tipe epidermal dan atau puran)

ng : Perkembangan perbaikan penuaan kulit (Kadar pH Kulit, deks Eritema, Nilai L, A dan B, kadar pigmentasi dan kadar UV

2.12 Definisi Operasional

Bertujuan untuk memudahkan pelaksanaan dan membatasi penelitian, maka dibuat definisi operasional sebagai berikut :

- Mikrobiom topikal yang mengandung *Lactobacillus plantarum* adalah serum yang mengandung Probiotik *Lactobacillus plantarum* ATCC8014 10^7 CFU/ ml yang dibuat di Laboratorium Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin, Makassar. Serum ini diaplikasikan 2 kali dalam sehari pada kedua pipi kanan dan kiri hingga satu sentimeter dari kantung lateral kanan dan kiri sebanyak 1 pump atau 0.15 ml.
- pH kulit merupakan pH pada kulit yang normalnya cenderung asam yaitu 4.2-5.0 dapat diukur menggunakan alat pH meter pada 1 cm dari kantung lateral kanan dan kiri. Nilai optimal pH apabila didapatkan pH kurang dari 5.0.
- Klinis Hiperpigmentasi merupakan gambaran klinis dari pemeriksaan status dermatologis terhadap lesi hiperpigmentasi yang timbul pada kulit akibat penuaan seperti lentigo senilis, melasma, dan frekles yang secara objektif menggunakan alat mexameter, chromameter dan *skin analyzer* yang diukur pada baseline, 2 minggu pada kunjungan ke-2 dan ke-3, 4 minggu pada kunjungan ke-4 dan ke-5 dengan total *follow up* adalah 12 minggu.
- Indeks Melanin merupakan banyaknya komponen melanin pada kulit yang dapat diukur secara objektif menggunakan alat mexameter, dalam satuan skala dari 0 hingga 999 yangmana semakin rendah angka pada parameter alat maka kadar melanin pada kulit semakin sedikit. Indeks melanin di ukur pada kedua pipi kanan dan kiri dengan jarak 6 cm dari garis tengah hidung.
- Indeks Eritema merupakan banyaknya komponen hemoglobin pada kulit yang dapat diukur secara objektif menggunakan alat mexameter, dalam satuan skala dari 0 hingga 999 yangmana semakin rendah angka pada parameter alat maka kadar eritema pada kulit semakin sedikit. Indeks melanin di ukur pada kedua pipi kanan dan kiri dengan jarak 6 cm dari garis tengah hidung.
- Chromameter adalah alat yang digunakan untuk memantau perkembangan perbaikan klinis hiperpigmentasi dengan parameter L yang menyatakan kecerahan warna, dengan skala antara nilai 100 untuk permukaan putih dan 0 untuk permukaan hitam. Parameter A merepresentasikan perubahan sepanjang sumbu merah-hijau dan Parameter B merepresentasikan perubahan sepanjang sumbu kuning-biru.
- Skin analyzer merupakan alat yang digunakan untuk menilai perkembangan perbaikan klinis hiperpigmentasi dengan parameter nilai pigmentasi dan UV spots yang terdeteksi secara otomatis melalui alat ini. Nilai optimal pada alat ini mengindikasikan kulit sehat.



n Analisis Data

akan dengan menggunakan SPSS versi 27. Rata-rata dan *error*) rata-rata dikalkulasi untuk semua data dan ditampilkan an dilakukan uji statistik. Uji normalitas data dilakukan dengan uji perbandingan rata-rata berdasarkan waktu pengukuran

dilakukan dengan uji Friedman. Uji perbandingan rata-rata antar 2 waktu pengukuran dilakukan dengan uji paired t test untuk data normal dan uji Wilcoxon untuk data tidak normal. Uji perbandingan rata-rata dua kelompok sampel dengan uji independent sample t test untuk data normal dan uji Mann Whitney untuk data tidak normal. Data dalam skala kategorik dianalisis dengan uji Fisher exact test karena ada cell dengan frekuensi harapan kurang dari 5. Nilai $p < 0.05$ dianggap signifikan.

